

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Morfoloji Anabilim Dalı

Danışman:
Prof.Dr. Yener AYTEKİN

111594

PERMETHRİN'İN
SIÇAN TESTİS MORFOLOJİSİ ÜZERİNE
ETKİLERİ

(DOKTORA TEZİ)

111594

Engin YENİLMEZ

Engin Yenilmez

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İstanbul-1993

TEŐEKKÜR

Gerek doktora eğitimim sırasında, gerekse diğer konularda yetişmemde bŸyŸk katkıları bulunan hocam Sayın **Prof.Dr.Yener AYTEKİN'e**, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve fırsatlar tanıyan sayın hocam **Prof.Dr.İsmail PETÖRAK'a**, tŸm hocalarıma ve arkadaşlarıma, İ.U.Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM) gÖrevlileri ile bana destek veren herkese teőekkŸr ederim.

Engin YENİLMEZ

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
AMAÇ	8
MATERYAL VE METOD	9
BULGULAR	12
TARTIŞMA	22
SONUÇ	30
ÖZET	32
SUMMARY	33
KAYNAKLAR	35
RESİMLER VE AÇIKLAMALAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ	52

GİRİŞ

İnsektisit(böcek öldürücü)'lerin insan sağlığına etkilerinin bulunup bulunmadığı hep tartışma konusu olmuştur. Yaygın olarak kullanılan insektisitlerden biri olan permethrin'in (1, 16), memeliler için düşük toksik (16, 18, 33, 42), böcekler için güçlü öldürücü (1,33) özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu maddenin ışıktta kolay bozulmaması (1,21,33, 42) ve biosferde kalıntı oluşturmaması da en çok tercih edilen insektisitlerden biri olmasını sağlamıştır (18,42). Bununla birlikte permethrin'le yapılan bazı araştırma ve dermatolojik uygulamalarda karaciğer (1,6,16), böbrek, akciğer (16), kan (42), deri (3,4,14,21,33,34,38,42,43,44,45) ve sinir (9,26,28, 29,40,46) dokuları ile ilgili bazı bulgular elde edilmiş,olumsuz etkiler tartışılmıştır.

Permethrin İstanbul Büyükşehir Belediyesi tarafından da, nüfusun yoğun olduğu birçok bölgede böcek öldürücü olarak kullanılmakta ve milyonlarca insan bu ilaçla direkt veya indirekt yoldan kontamine olmaktadır. Bu yolla alınan permethrin'in insan sağlığı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar çok azdır. Deneysel model oluşturularak yapılan araştırmalar da yeterli değildir.

Konuyla ilgili yapılan bir araştırmada sıçan ve farelere 2 yıl boyunca 0, 500, 1000 ve 2500 ppm permethrin verilmesi sonucu sıçanların karaciğer hücrelerinde (hepatositlerde) düz endoplazma retikulumu proliferasyonu ve lobulus merkezine yakın hepatositlerde vakuol artışı izlenmiş, farelerin böbrek proksimal tubulus epitelindeki vakuollerde azalma ile karaci-

ğer, akciğer ve lenforetiküler neoplazilere rastlanmıştır (16).

Permethrin'in insan yaşamında devamlı mücadele konusu olan sivrisineklere (11,13,22,30,31), kenelere (19), tatarcıklara, karasineklere, pirelere (36), bitlere (21,33,42) karşı ve uyuz tedavisinde (14,33,42,43,45) kullanılırken sindirim, solunum veya deri yoluyla insan vücuduna girip dolaşım sistemi aracılığı ile tüm doku ve hücrelere taşınması söz konusudur.

Organizmada en çok hücre bölünmesinin ve yenilenmesinin olduğu testislerin de bu yolla permethrin tarafından etkilenebileceğini düşünerek bu etkilerin araştırılmasını istedik.

Yaptığımız literatür taramalarında permethrin'in testisler üzerine etkilerinin mikroskopik düzeyde araştırılmamış olduğunu gördük. Bu nedenle normal ağırlıktaki genç erişkin sıçanlara değişik dozlarda permethrin vererek sıçan testislerini ışık ve elektronmikroskopi düzeyinde inceleyip konuya bu açıdan katkıda bulunmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Permethrin (3-phenoxybenzyl (\pm)-cis,trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate) değişik tarım ürünleri üzerine zararlı lepidoptera türlerini kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan sentetik bir pyrethroid'dir (16).

İlk sentetik pyrethroid 1940'ların sonlarına doğru geliştirilmiş (18), 1943 yılında ise pyrethrum'un sıkıştırılmış aerosol halinde kullanımı için patent alınmış ve bunun endüstriyel üretimine başlanmıştır (42). 1973 yılında ilk defa ışığa dayanıklı (fotostabil) pyrethroid olarak permethrin üretilmiştir (18,40,42).

Permethrin, insan ektoparazitlerine karşı ilk defa 1976 yılında, Mısır'da kullanılmış, 1980 yılına doğru Buroughs Wellcome şirketi tarafından insan kullanımına sunulmak üzere geliştirilmiştir (42). 1985 yılına kadar üretilen pyrethroid sayısı 1000'i aşmıştır (8).

Tüm pyrethroidler suda çözünmeyen lipofilik insektisitlerdir (8,18,23).

Pyrethroidlerin çoğu iki veya üç asimetric karbon atomları ile dört veya sekiz optik ve geometrik izomerlerin karışımı şeklinde bulunurlar (40).

Bu bileşiklerin yüksek insektisit aktiviteleri bir aromatik alkol ve önemli dimetil grubu içeren bir asit arasındaki ester bağlanması ile ilgilidir. Bunlar diğer sınıf insektisitlerden daha hidrofobiktirler. Yüksek hidrofobik özellikleri ile

biyolojik membranlarda fosfolipid ikili tabakası ve fosfolipid komponentlerine yaygın olarak bağlanır ve özellikle de primer olarak sodyum kanallarında etkili olurlar (23).

Sentetik pyrethroidler yaygın oranda sinir toksinleri olarak kabul edilirler (5,8,18). Bunlar her bir sinir impulsunun üretilmesi ve iletilmesi temelini oluşturan sodyum kanallarını etkileyerek (8,40) normalden daha yavaş kapanmalarına ve böylece membran depolarizasyonunun sonlanmasından sonra içeriye doğru olan sodyum akımının kademe kademe bozulmasına neden olurlar. Bu bozulmadan akson doğrudan etkilenir (8).

Böceklerin nörosekretuar nöronlarının, pyrethroidlerin çok düşük dozlarına duyarlı oldukları, pyrethroidlerle karşılaşan böceklerin nöroendokrin sistemlerinin geri dönüşümsüz olarak bozulduğu bildirilmiştir (40).

Pyrethroidler kimyasal yapıları ve toksik etkilerine göre iki büyük gruba ayrılırlar.

■ Tip I'ler alfa pozisyonunda cyano grubu taşımazlar. (5,7,8,10,20,26,40); bazı memeliler ve böceklerde saldırgan davranışlar, belirgin titremeler, takatsızlık, yüksek vücut sıcaklığı (5), koordinasyon bozukluğu (7,26,40), konvulziyonlar (26,40), hipereksitasyon ve sonunda felç (26) gibi bozukluklar ile T (tremor) sendromuna neden olurlar (40). Tip I'lere örnek olarak permethrin ve resmethrin verilebilir (10,20).

■ Tip II pyrethroidler ise alfa pozisyonunda bir cyano grubu içerirler (5,7,8,10,20,26,40); bazı memeliler ve böceklerde salya çıkarma ve çiğneme, gizlenme (5), konvulziyonlar(7), yüksek duyarlılık, choreoathetosis ve felç (5,26,40) gibi bozukluklar ile CS (choreoathetosis/salivation) sendromuna neden olurlar (40). Tip II'lere örnek olarak deltamethrin, cypermethrin ve fenvalerate verilebilir (10,20).

Tip I pyrethroidler, Tip II'lere göre daha hızlı etki ederler (7).

Sentetik pyrethroidler, cis ve trans izomerlerinin karışımı şeklinde bulunurlar. Bunların cis izomerleri trans izomerlerine göre daha yüksek memeli toksisitesine neden olmaktadır (8,10).

Sentetik pyrethroid insektisitler yiyecekler ve pamuk ipliği gibi depolanmış ürünlerin korunması, çeşitli hastalık taşıyan böcekler ile orman ve tarıma zararlı böceklerin yayılmalarını önlemek amacıyla kullanılmaktadırlar (5,18,42).

Pyrethroidlerin sıçan, fare ve tavşanlarda teratojenik, belirli bakteri türlerinde ise mutajenik olmadıkları gösterilmiştir (8). Bu insektisitlerin doğrudan sinir sistemine uygulanmaları ile böceklerde görülen nörotoksik etkiler memelilerde de görülmüştür (46).

Pyrethroidler hepatik proteinlere kovalent bağlanarak oldukça reaktif bileşikler oluştururlar. Kovalent bağlanma sıklıkla toksik etkilere, daha belirgin olarak da mutajenik, karsinojenik, sitotoksik ve allerjik etkilere neden olur (15). Nitekim pyrethroidlerin tatbikini yapan işçilerin derilerinde kaşınma ve yanma görülmüştür (8).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda Tip I ve Tip II pyrethroidlerin sıçan beyin sinaptozomlarında, stimüle olmayan bazal aktiviteyi etkilemeksizin, Ca^{+2} -ATPaz, Mg^{+2} -ATPaz ve adenilat siklaz aktivitesini inhibe ettikleri bildirilmiştir (40).

Doğal pyrethrinler gibi sentetik pyrethroidler de, sıcaklık ile insektisit aktiviteleri arasında ters bir korelasyon gösterirler (42).

Sentetik pyrethroid olan permethrin'in ticari olarak, veteriner hekimliği, tarım ve halk sağlığında güvenle kullanıldığı rapor edilmiştir (5,21,42). Permethrin sentetik pyrethroidler arasında en çok tercih edilen insektisitlerden biridir (1).

Permethrin'in chlorophenothane (DDT)'den yaklaşık 18 kat daha güçlü insektisit özellik gösterdiği, buna karşın lindane ve DDT'den yaklaşık 40 defa daha az toksik olduğu kaydedilmiştir (42).

Permethrin'in sıçanlarda sitogenotoksik (15), Drosophila melanogaster Meigen'de ise mutajenik (12) olmadığı bildirilmiştir.

Permethrin'in %1'lik toz pudrası vücut bitlerini (42), %1'lik losyonu baş bitlerini tamamen öldürmüştür (21,42); %5'lik kremi uyuzlu hastaların %89-100'ünü tedavi etmiştir (14,33,42,43,45).

Birçok araştırmada permethrin'in sivrisinekler (11,13,22,30,31,32,39,42), keneler (19), tatarcıklar ve pirelere (36) karşı hızlı öldürücü, karafatma böceğine karşı uzaklaştırıcı (2) etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Kumaşlar, üniformalar, perdeler, yataklar ve yatak örtülerinin permethrin'le yıkanması sonucu sivrisinek ısırıklarına karşı tamamen korunulduğu kaydedilmiştir (13,30,31,39,42).

Permethrin'le doyurulmuş kumaşların 20 kere yıkanmasından sonra bile, kalan permethrin'in iki saat içinde, insan bitlerinin hem doğal hem de laboratuvar popülasyonlarını %99-100 oranında öldürdüğü bildirilmiştir (36).

%25.6 permethrin içeren preparattan farelere oral olarak 0.5, 5 ve 50 mg/kg, dermal olarak 30 ve 300 mg/kg uygulanmasıyla pyrethroid insektisitler tarafından oluşturulan T ve CS sendromları görülmemiştir (24).

Permethrin'in birçok zararlı böceğe karşı güçlü öldürücü etkisine rağmen mısır ve pamuk yaprağı solucanı olan Spodoptera littoris (9) ile bazı tür sineklere (35,41) karşı bu etkisini gösteremediği kaydedilmiştir.

Permethrin'in belirtilen birçok olumlu özellikleri yanısıra birkaç olumsuz özelliklerinden de bahsedilmiştir. Bu maddenin sıçanlara yüksek dozlarda verilmesiyle tipik bir alfa-cyano sentetik pyrethroid gibi titremelere (16), insanlarda cilde sürülmesiyle, sürüldüğü yerde uyuşma ve karınca lanmaya, pudra olarak kullanılmasıyla da nefes darlığı ve öksürüğe neden olduğu tespit edilmiştir. Zararlı böcekleri permethrin'le ilaçlayan orman işçilerinin derilerinde kaşınma ve yanma bildirilmiştir (8). Permethrin'in sıçan karaciğerinde ilaç metabolizmasına duyarlı bazı enzimleri etkileyici bir ajan olduğu kaydedilmiştir (1).

Permethrin'in organik maddeler ile topraktaki mikroorganizmalar tarafından hızlı bir şekilde parçalanması ve yarı ömrünün yaklaşık dört hafta olması nedeniyle ekosistem üzerine etkilerinin güven verici olduğu kaydedilmiştir (42).

Permethrin teknik pyrethroid olarak genellikle absölü etanolde sulandırılır (8) ve Sudan IV ile boyanır (37).

Birçok sentetik pyrethroid gibi permethrin de cis ve trans izomerlerinin karışımı şeklinde kullanılır. Permethrin'in cis izomeri trans izomerine göre mememilerde daha toksik, böcek ve balıklarda ise daha öldürücüdür (8,10,42,48).

AMAÇ

Permethrin, insana zararlı olan sivrisinekler (11,13,22, 30,31) ve bitlere (21,33,42) karşı mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu madde birçok ülkedeki örnekleri gibi İstanbul Büyükşehir Belediyesi tarafından da, sineklere karşı yapılan ilaçlamada nüfusun yoğun olduğu yerlerde kullanılmakta ve milyonlarca insan bu ilaçla kontamine olmaktadır. Bu yolla istenmeden doku ve organlara geçen permethrin'in insan sağlığı üzerine etkilerini inceleyen araştırmalar çok azdır. Deneysel model oluşturularak yapılan araştırmalar da yetersizdir.

Her ne kadar permethrin'in memelilerde çok az toksik etki yaptığı bildiriliyorsa da (16,33,42) bunun çeşitli organ, doku ve hücre düzeyinde etkilerini araştıran çalışmalar çok azdır.

Vücutta çok bölünen ve yenilenen hücrelere sahip olan testisler örnek alınarak permethrin'in etkilerini araştırmak gayesiyle bu çalışmayı planladık.

Yapılan literatür taramalarında permethrin'in testisler üzerine etkilerini inceleyen bir araştırmaya rastlayamadık. Bu bakımdan deneysel bir model oluşturularak permethrin'in sıçan testisleri üzerine etkilerini ışık ve elektronmikroskopu düzeyinde inceleyip konuya katkıda bulunmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM)'nden sağlanan 180-200 gr ağırlığında Wistar türü inbred genç-erişkin erkek albino sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanlar birbirlerine karıştırıldıktan sonra deney grupları oluşturuldu.

1'i kontrol, 5'i deney grubu olmak üzere 6 grup belirlendi. Gruplara ayrılan sıçanların kafesleri üzerine grup adları ve protokol numaraları yazıldı. Deney gruplarına ait sıçanlara verilecek permethrin miktarları, verilme süresi ve sıçan sayıları aşağıdaki gibi belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Sıçanlara uygulanan permethrin miktarları, verilme süresi ve sıçan sayıları.

Gruplar	Verilen permethrin (mg/sıçan-gün)	Verilme süresi (gün)	Sıçan sayısı
I.Grup (Kontrol)	-	-	10
II.Grup	20	30	5
III.Grup	40	30	5
IV.Grup	80	30	5
V.Grup (G.D)	40	30	5
VI.Grup (LD ₅₀)	640	30	5

Araştırmamızda cis:trans oranı 25:75 olan permethrin, ATABAY Tarım Veteriner İlaçları Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den hazır olarak alındı ve seyreltilmeden kullanıldı.

Deneye başlamadan önceki beş gün, gavaj uygulamalarına alışmaları için tüm sıçanlara gavajla günde 0.5 ml çeşme suyu ve normal fare yemi verildi. Bir aylık deney sürecinde kontrol grubuna gavajla 0.5 ml çeşme suyu verilirken, diğer gruplara daha önce belirlenen miktarlarda gavajla permethrin uygulandı; tüm sıçanların normal fare yemi ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlandı.

V. Grup sıçanlara bir ay süre ile permethrin verildikten sonra bu sıçanlar deneyin ikinci ayında, permethrin'in yapabileceği etkilerin geri dönüşünü izleyebilmek için son permethrin verilmesinden sonraki 30 gün, normal fare yemi ile beslendiler.

VI. gruptaki sıçanlardan 1 tanesi deneyin ikinci gününde, 3 tanesi altıncı gününde, 1 tanesi de onbirinci gününde öldü.

II., III. ve IV. gruplara ait tüm sıçanlar ile I. gruba ait 5 sıçan deneyin 30. gününde, V. gruba ait sıçanlar ile I. gruba ait diğer 5 sıçan ise deneyin 60. gününde eter ile bayıltıldı; testisleri çıkarılan sıçanlar dekapitasyonla öldürüldü.

Sıçanların testisleri ışık mikroskopi incelemeleri için Bouin ve formalin fiksatiflerine, elektronmikroskopi incelemeleri için ise 1 mm³'lük parçalar halinde fosfat tamponlu %2.5'lük glutaraldehid fiksatifine alındı.

Işık mikroskopi için rutin takiplerden geçirilen parçaların parafin blokları hazırlandı; parçalardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alındıktan sonra kesitlere hematoksil-eosin (H.E) ve periodic acid Schiff (PAS)-Haemalun boyaları uygulandı. Işık mikroskopi ile incelenen kesitlerden Leitz marka fotomikroskopta resimler çekilerek, mikrograflar hazırlandı ve değerlendirmeler yapıldı.

Elektronmikroskop incelemeleri için %2.5'luk fosfat tamponlu glutaraldehid (pH=7.2) içinde önfiksasyonu yapılan parçalar, ikinci fiksasyon için 1 saat süreyle %1'lik fosfat tamponlu osmium tetraoksit içine alındı. Daha sonra dehidratasyon için aseton serilerinden geçirildi. Vestopal serilerinden de geçirilen parçalar Vestopal-W içine gömülerek bloklandı. LKB ve Reichert marka ultratomlar ile 400-700 angström kalınlığında alınan kesitlere uranyl asetat ve kurşun sitrat kontrast boyaları uygulandı. Daha sonra bu parçalar Jeol 100C ve Zeiss EM9 2S elektronmikroskoplarında incelendi, resimler çekildi ve değerlendirmeler yapıldı.

Işık mikroskopu incelemeleri için hazırlanan preparatlardaki görüntüler Hertel-Reuss Kassel marka ışık mikroskopun oküler kısmına takılan ekranda izlendi. Ekran üzerine konan, ışığa karşı geçirgen, ince kağıtlara seminifer tubulusların enine kesitleri çizildi. Her gruptan en az 100 tubulus çapı ölçüldükten sonra tubulus çaplarındaki değişikliklerin Student's t değerlerine göre istatistiksel anlamının olup olmadığı araştırıldı.

BULGULAR

Deney başlamadan önceki beş gün gavaj uygulamalarına alışmaları için sıçanlara gavajla günde 0.5 ml çeşme suyu verildi. Beş günlük alıştırma periyodunun ilk gününde uygulamalara karşı direnen hayvanlar, daha sonraki günlerde gavaj uygulamasına alıştılar.

MAKROSKOPİK BULGULAR

Deney süresinde permethrin verilen sıçanların sese karşı hassaslaştıkları görüldü. Dış görünüşleri açısından kontrol sıçanlar ile permethrin verilenler arasında fark bulunamadı.

VI.gruptaki (LD₅₀) sıçanlardan biri deneyin ikinci gününde, üçü deneyin altıncı gününde, diğer bir tanesi ise deneyin onbirinci gününde öldü. Ölen sıçanların kıvrılmış durumda katılaştıkları, çenelerinin kenetlendiği ve ağızlarından salya geldiği belirlendi. Ölen hayvanların hepsi açılarak iç organlarına bakıldı; bunların barsaklarının gazla şişmiş olduğu tespit edildi. Hayati organları makroskopik görünüşleri açısından incelendi; testis, böbrek, karaciğer ve dalak normal görünümdeyken, akciğerlerde yer yer hemorajik odaklar ve morlaşma izlendi.

MİKROSKOPİK BULGULAR

I. Grup (Kontrol Grubu)

A) Işık Mikroskopi Bulguları: Seminifer tubulusları çember gibi saran peritubuler dokunun myoid hücrelerin bulunduğu orta tabakası ile iç ve dış hücresiz tabakaları PAS pozitif olarak izlendi. Myoid (peritubuler) hücreler, peritubuler dokunun ortasında bu dokuya paralel uzanan koyu boyanmış iğ şeklindeki uzun nukleuslarıyla tanındı (Resim 2).

Seminifer tubuluslarda spermatogenez serisine ait tüm hücreler normal olarak izlendi (Resim 1, 2). Bazal laminaya yakın olarak spermatogoniumlar görüldü. Spermatogoniumların yanında açık boyanan ve genellikle şekilsiz nukleuslarıyla Sertoli hücreleri tanındı (Resim 2). Tubulus bazalinden lümene doğru spermatogoniumların hemen üzerinde bunlara göre daha büyük, meiosis geçirmekte olan, spermatocyt I (primer spermatocyt)'ler seçildi. Spermatocyt I'lere göre lümene daha yakın ve daha küçük olan spermatocyt II (sekonder spermatocyt)'ler daha az sayıda görüldü. Nükleusun üzerine oturmuş hilal şeklinde PAS pozitif akrozom yapısıyla yuvarlak spermatidler, lümene uzanan iplik tarzında kuyrukları ve koyu uzun başlarıyla spermatozoonlara dönüşecek olan uzamış spermatidler tanındı (Resim 2).

İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri, nukleusları hafif kenara doğru kaymış nispeten büyük hücreler olarak tanındı. Bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları, sinir kesitleri normal yapıda görüldü (Resim 1, 2).

B) Elektronmikroskopu Bulguları: Peritubuler doku (tunica propria)'nın iç ve dış tabakaları açık orta tabakası ise koyu (elektron yoğun) olarak tanındı; orta tabakada peritubuler dokuya paralel uzanan myoid hücreler yassı, heterokromatik nükleuslarıyla seçildi (Resim 3-A).

Bazal laminaya oturan Sertoli hücrelerinin eukromatine sahip hafif invajinasyonlu nükleusu içindeki nükleolus koyu olarak izlendi; sitoplazmada değişik şekillerde mitokondri-ler ve elektron yoğunluğu değişik lipid inklüzyonları görüldü. Kan-testis bariyeri (Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi) de elektron yoğun olarak seçildi. Bazal laminaya oturan spermatogoniumlar yuvarlak veya oval nükleuslarıyla tanındı. Bunların az sayıdaki mitokondrileri sitoplazmaya dağılmıştı. Spermatocyt-ler spermatogoniumlara nispeten daha büyük ve hemen onların üzerinde değişik meiosis bölünme safhalarında, çoğunlukla osmium yoğun kromozomlarıyla tanındı. Bunların mitokondrileri nükleus yakınında ve gruplar halinde yer almaktaydı; mitokondriler arasında elektron yoğun RNA partikül-leri görüldü (Resim 3-A). Spermatidlerde mitokondriler hücre membranı boyunca dizili, kristalları az ve vakuollü şekilde izlendi. Golgi fazındaki spermatidler nükleusa yakın Golgi aygıtı ile, akromozal başlık fazındaki spermatidler ise nükleus kenarında elektron yoğun akrozom granülü ve nükleus üzerine hilal şeklinde oturan akrozomu ile tanındı. Lümene daha yakın olan uzamış spermatidler koyu uzamış baş ve kuyruk kesitleriyle seçildi (Resim 3-B).

İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerinin nükleusları koyu kenar kromatinine sahipti; sitoplazmalarında SER (düz endoplazma retikulumu), Golgi kompleksi, lipid inklüzyon-ları ve mitokondrileri seçildi (Resim 4). Bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sinirler normal yapılarında izlendi.

II. Grup (20 mg/sıçan-gün Permethrin Verilenler)

A) Işık Mikroskopu Bulguları: Peritubuler dokuda myoid hücreler yassı-uzun (iğ şeklinde) nükleuslarıyla kontrollerine benzer şekilde görüldü (Resim 6).

Seminifer tubuluslarda, Sertoli hücreleri soluk nükleuslarıyla seçilirken, spermatogoniumlar bazal laminaya yakın olarak izlendiler. Meiosis bölünmesi geçirmekte olan spermatocyt I'ler, spermatocyt II'ler ile spermatidler kontrole yakın yapıda izlendi (Resim 5,6). Ancak bazı tubuluslarda germinal epitelde hücre membranları arasında hafif açılmalar seçildi (Resim 6).

İnterstisyel dokuda, Leydig hücreleri hafif ekzantrik duruşlu nükleusları ve nispeten bol sitoplazmaları ile tanındı. Değişik bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sinir kesitleri normal yapıda izlendi (Resim 5, 6).

B) Elektronmikroskopu Bulguları: Peritubuler doku ve myoid hücreler kontrole yakın yapıda görüldü (Resim 7-A).

Seminifer tubuluslarda bazal laminanın hemen üzerinde yer alan Sertoli hücrelerinin nükleusları invajinasyon göstermekteydi; düzenli kromatin dağılımı olan nükleusları içinde koyu ve açık bölgeleri olan nükleoluslar görüldü. Bu hücrelerin sitoplazmalarında değişik şekillerde mitokondri-ler ve kontrol grubuna göre biraz fazla miktarda lipid inklüzyonları vardı. Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi normaldi. Bazal laminaya oturan spermatogoniumlar ile spermatogoniumlara göre lümeneye daha yakın ve onlardan daha büyük olan spermatocyt I'ler seçildi. Spermatocytlerde nükleuslar meiosis figürleri gösteren kromozomlarıyla tanındı.

Değişik farklılaşma evrelerindeki spermatidlerin yuvarlak şekilli mitokondrileri hücre membranı boyunca

diziliydi. Uzamış spermatidlerin enine ve boyuna kesitleri kontrol grubundakilerle benzer yapıdaydı. Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar arasında küçük açılmalar görüldü. Bazı tubuluslarda sayıca artmış anormal spermatidler ve olgunlaşmadan tubulus lümenine bırakılmış germinal hücreler izlendi (Resim 7-A,B).

İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri bol miktarda mitokondri, değişik elektron yoğunluğunda lipid inklüzyonları, hafif dilate düz endoplazma retikulumu ve kenar kromatini belirgin nükleuslarıyla tanındı (Resim 8). Çeşitli bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sinirler kontrollerine benzer yapıda izlendi.

III. Grup (40 mg/sıçan-gün Permethrin Verilenler)

A) Işık Mikroskopu Bulguları: Peritubuler dokuda, hafif kıvrılmalar olmasına rağmen, PAS pozitif reaksiyonda değişiklik görülmedi. Myoid hücreler kontrollerine yakın yapıda izlendi.

Çoğu seminifer tubuluslarda küçük büyütmelerde spermatogenez kademeleri normal olarak izlendi (Resim 9). Daha büyük büyütmelerde ve elektronmikroskopta da izlenen (Resim 11-A) bazı tubulusların germinal epitelinde hücrelerarası açılmalara rastlandı (Resim 10). Tubulusların çoğunda Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar arasında boşluklar görüldü. Bu vakuol tarzındaki açılmalar spermatogoniumlarla peritubuler doku arasında da izlendi (Resim 10).

Hücre membranları ilişkilerinde bozukluklar bulunan tubuluslarda germinal hücre sayısında biraz azalma ve bazı tubulusların lümeninde olgunlaşmamış germinal hücre döküntüleri görüldü (Resim 10, 11-B).

İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerinde kontrol grubundakilere göre önemli değişiklikler izlenmedi. Çeşitli

bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sınırlar kontrollerine yakın yapıda görüldü (Resim 9,10).

B) Elektronmikroskopu Bulguları: Peritubuler dokuda kollajen lifleri içeren iç ve dış hücresiz tabakalar açık, myoid hücrelerin bulunduğu orta tabaka ise koyu (elektron yoğun) olarak seçildi. İç hücresiz tabakada hafif kalınlaşma ve ondülasyon izlendi (Resim 11-A). Ondülasyon bazal lamina daha belirgindi.

Seminifer tubulusta Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar arasında oluşan boşluklar çok belirgindi ve bu boşluklara doğru spermatogoniumlardan sitoplazmik ayakçıklar çıkarıldığı belirlendi. Spermatogoniumlarda total hücre atrofisi ile birlikte sitoplazma/nükleus hacim oranında azalma gözlemlendi. Sertoli hücresi sitoplazmasında lipid inklüzyonlarının kontrole göre arttığı tespit edildi. Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi normaldi. Genellikle spermatocyt I, spermatocyt II, yuvarlak ve uzamış spermatidler normal yapılarında izlenirken, bazı tubulus kesitlerinde kontrollere göre biraz fazla anormal baş gelişimi gösteren spermatidlere de rastlandı. Işık mikroskopu seviyesinde de tespit edilen olgunlaşmadan lümene dökülen germinal hücreler elektronmikroskopu seviyesinde hücre organelleri de seçilerek daha iyi bir şekilde tanındı (Resim 11-A,B).

İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri sitoplazmalarında, lipid inklüzyonları büyüklükleri ve sayılarında artış görüldü. Sitoplazmaya dağılmış olan mitokondri matriksi içinde yer yer koyu (elektron yoğun) madde birikimi izlendi (→). SER dilatasyonları belirgindi. Leydig hücreleri nükleusları kenar kromatininde artış izlendi (Resim 12). Değişik bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sınırlar lifleri kontrole yakın yapıda görüldü.

IV. Grup (80 mg/sıçan-gün Permethrin Verilenler)

A) Işık Mikroskopu Bulguları: Peritubuler dokuda kontrollere göre belirgin bir farklılık görülmedi (**Resim 13,14**)

Seminifer tubuluslarda birçok tubulusun germinal epitelinde hücre membranları arasında belirgin açılmalar izlendi. Küçük büyütmelelerde izlenen peritubuler dokuya paralel hücre ayrılmaları (**Resim 13**) daha büyük büyütmelelerde spermatogoniumlarla Sertoli hücresi, spermatogoniumlarla peritubuler doku ve spermatogoniumlar arasında belirgin olmak üzere tüm germinal hücre membranları arasında izlendi (**Resim 14**). Spermatogenetik hücrelerin sayısal yoğunlukları da kontrollere göre çok daha az olarak tespit edildi. Birçok tubulus lümeninde spermiogenezin erken dönemlerinde olan olgunlaşmasını tamamlamamış germinal hücre döküntüleri izlendi (**Resim 14**).

İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerinin çoğu eosinofilik sitoplazmaları ile izlenirken, bazıları da atrofik olarak izlendi (**Resim 14**). Bu grubun interstisyel dokusunda çoğunlukla ödematöz boşluklar mevcuttu. Değişik bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sinir lifleri görüldü (**Resim 13,14**).

B) Elektronmikroskopu Bulguları: Peritubuler dokunun iç hücresiz tabakasında kalınlaşma ve bazal laminada ondülasyon görüldü (**Resim 15,16**).

Seminifer tubuluslarda Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar arasında oluşan boşluklarda, bir önceki gruba (III.gruba) göre büyüme belirgindi. Spermatogoniumların sitoplazmik volümlerinin küçüldüğü, nükleuslarının ise atrofik olduğu belirlendi. Bu hücrelerden kendi çevrelerinde oluşan boşluklara doğru sitoplazmik ayakçıkların uzandığı görüldü. Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları belirgin şekilde koyulaşmıştı. Bu hücrelerin nükleuslarında belirgin

invajinasyonlar izlendi. Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi bozulmamıştı. Sertoli hücrelerinin lümene yakın kısımlarında çok sayıda lipid ve lipofuscin granülleri vardı. Germinal epielin spermatocytler ve daha sonraki evrelerde bulunan hücreleri dikkat çekici patoloji göstermedi. Ancak bazı tubuluslarda anormal spermatidlere rastlandı. Lümende Sertoli hücresi sitoplazmasından ayrılan sitoplazmik parçacıklar ve germinal hücre döküntüleri izlendi (Resim 15).

İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerindeki lipid inklüzyonlarında belirgin bir artış tespit edildi. Ayrıca bu hücrelerde SER dilatasyonları vakuoller şeklinde gözlemlendi. Leydig hücre çekirdeklerinde düzensizlikler -invajinasyonlar ve kenar kromatininde artış izlendi (Resim 16). İnterstisyuma ait çeşitli bağ dokusu hücreleri, damarlar ve sinir liflerinde kontrollerine göre belirgin bir farklılık gözlenmedi.

V.Grup (Bir Ay 40 mg/sıçan-gün Permethrin Verilip İkinci Ayda Uygulama Yapılmayanlar)

A) Işık Mikroskopu Bulguları: Peritubuler doku ve bu dokudaki myoid hücreler kontroldekilerle aynı yapıda görüldü (Resim 17,18).

Seminifer tubuluslarda Sertoli hücreleri ve bu hücrelerin etrafında yer alan spermatogoniumlar kontrollerine benzer yapıda izlendi (Resim 17,18). Bazı tubuluslarda yer yer spermatogoniumlarla Sertoli hücreleri arasında hafif açıklıklara rastlandı. Ancak bu açıklıkların boyutları 20 mg/sıçan-gün permethrin uygulananlara göre çok daha küçük bulundu (Resim 18). Spermatocyt ve spermatidler kontrolleriyle aynı yapıda izlendi.

İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri nispeten büyük ve hafif ekzantrik duruşlu nükleuslarıyla kontrollere benzer yapıda izlendi. Bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf

damarları ile sinirler kontrolleriyle aynı yapıda görüldü (Resim 17,18).

B) Elektronmikroskopu Bulguları: Peritubuler dokunun iç ve dış tabakaları açık, myoid hücrelerin sitoplazmik bölgelerinin bulunduğu orta tabaka ise koyu (elektron yoğun) olarak izlendi. Myoid hücreler kontrollerine benzer yapıdaydı (Resim 19).

Seminifer tubuluslarda, bazal laminaya oturan Sertoli hücreleri, invajinasyonlu soluk nükleus ve koyu nükleolusa sahipti. Bu hücrelerin sitoplazmalarında elektron yoğun lipid inklüzyonları ve değişik şekillerde mitokondriler vardı. Spermatogoniumlar ise genellikle oval şekilli nükleusa sahipti; nükleusların kromozomları mitoz figürleriyle dikkat çekiyordu. Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar arasında çok küçük aralıklara nadiren rastlandı. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı birleşme kompleksi normal yapıdaydı. Spermatocytler ve spermatidler kontrolleriyle aynı yapıda izlendi (Resim 19).

İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerinde elektron yoğun lipid inklüzyonları, düz endoplazma retikulumu ve çok sayıda mitokondri izlendi. Lipid inklüzyonları üçüncü gruptakilere göre daha küçük ve daha az sayıda tespit edildi (Resim 20). Değişik tipteki bağ dokusu hücreleri, lifleri, kan ve lenf damarları ile sinirlere ait patolojik bir bulgu yoktu.

İSTATİSTİKSEL BULGULAR

Deneyde kullanılan sıçanların ortalama seminifer tubulus çapları ve standart değerleri Tablo II'de özetlendi. Tubulus çaplarındaki değişikliklerin Student's t testi ile değerlendirilmeleri sonucu deneyin 30.gününde testisleri çıkarılan I.grup (0.26303 mm) ile II.grup tubulus çapları (0.26184 mm) arasında anlamlı değişiklik bulunamadı ($p > 0.05$),

I.gruba göre III.grup tubulus çaplarında (0.25586 mm) anlamlı küçülme ($p < 0.05$), IV.grup tubulus çaplarında (0.25441 mm) ise ileri derecede anlamlı küçülme ($p < 0.01$) belirlendi. Deneyin 60.gününde testisleri çıkarılan I.grup (0.26576 mm) ile V.grup tubulus çapları (0.26252 mm) arasında anlamlı bir değişiklik bulunamadı ($p > 0.05$).

II.grup ile III.grup tubulus çapları arasında anlamlı değişiklik bulunamadı ($p > 0.05$); II.gruba göre IV.grup tubulus çaplarında anlamlı küçülme ($p < 0.02$) bulunurken, II.grup ile V.grup tubulus çapları arasında anlamlı değişiklik bulunamadı ($p > 0.05$).

III.grup ile IV.grup tubulus çapları arasında anlamlı değişiklik bulunamazken ($p > 0.05$), III.gruba göre V.grup tubulus çaplarında anlamlı bir büyüme ($p < 0.05$) bulundu.

IV.gruba göre V.grup tubulus çaplarında ileri derecede anlamlı büyüme ($p < 0.01$) bulundu.

Tablo 2. Ortalama seminifer tubulus çapları, standart değerleri ve örnek sayıları

Gruplar	30. Gün			60. gün		
	Tubulus çapı (mm)	Standart değer (SD)	Örnek sayısı (n)	Tubulus çapı (mm)	Standart değer (SD)	Örnek sayısı (n)
I. Grup (Kontrol)	0.26303	0.02908	112	0.26576	0.02328	111
II. Grup (20 mg)	0.26184	0.02639	114			
III. Grup (40 mg)	0.25586	0.02520	116			
IV. Grup (80 mg)	0.25441	0.01782	111			
V. Grup (GD)	-	-	-	0.26252	0.02524	107

TARTIŞMA

Daha önce yapılan araştırmalarda birçok kimyasal madde ve ilaçların testisleri etkileyerek spermatogenezi bozduğu (17, 25,27) ortaya konmuştur. Etkili bir böcek öldürücü olan (1,33), ışıkta kolay bozulmayan (1,21,33,42), memelilerde çok az seviyede toksik etki gösteren (16,18,33,42) biosferde kalıntı oluşturmayan (18,42) ve zararlı böceklere karşı hem kitlesel ilaçlamada hem de bireysel tedavilerde çok tercih edilen(1) permethrin'in erkek üreme sistemini ve bu sistem içinde yer alan, en çok bölünen hücrelere sahip olan, testisleri etkileyebileceği düşünülebilir. Yapılan literatür taramasında permethrin'in bu organlar üzerindeki etkilerini morfolojik yönden araştıran bir çalışmaya rastlanmadı. Hatta permethrin'in insan sağlığı üzerine etkilerini inceleyen veya deneysel model oluşturularak yapılan araştırmaların da yetersiz ve sınırlı olduğu görüldü.

Permethrin İstanbul'da da zararlı böceklere karşı kullanılmakta ve milyonlarca insana, direkt veya indirekt yolla bulaşmaktadır. Bu nedenle permethrin'in insan sağlığı üzerine etkilerinin daha ayrıntılı olarak araştırılması gerekir.

Bu araştırma permethrin'in sıçan testisleri üzerine etkilerini ışık ve elektronmikroskopi düzeyinde incelemek, konuya bu açıdan katkıda bulunmak amacıyla planlandı. Araştırmamızda literatür bilgileri ışığında permethrin'in değişik dozları kullanıldı; doza bağlı oluşabilecek testis dokusu değişiklikleri morfolojik açıdan tespit edildi. Ayrıca permethrin'in oluşturabileceği bozuklukların geri dönüşlü olup olmayacağını tespit etmek için bir ay süreyle her gün permethrin verilen hayvanlar bir ay da permethrin verilmeden normal fare yiyecekleri ile beslendi ve daha sonra testisleri incelendi.

Permethrin'in memelilerde hızlı bir şekilde metabolize olarak vücuttan atıldığı (16,42), dokularda tutulmadığı ve depolanmadığı (42), böylece çok az toksisite gösterdiği (16,33, 42) bildirilmiştir.

Permethrin'in cis izomerinin trans izomerine göre böceklerde daha öldürücü, memelilerde ise daha güçlü toksik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle tarımda, zararlı böceklerle karşı savaşta cis:trans oranınının 40:60 veya 50:50 gibi daha yüksek seviyede, insanların böceklerle karşı korunması için ise bu oranın 25:75 gibi daha düşük seviyede olmasına dikkat edilmektedir (42).

Daha önce yapılan bir araştırmada (16) sıçan ve farelere iki yıl boyunca %93.9 saflıkta, cis:trans oranı 40:60 olan permethrin'den 0, 500, 1000 ve 2500 ppm içeren yiyecekler verilmiş, deneyin 52.haftasında sadece 2500 ppm permethrin verilen erkek sıçanların karaciğerlerinde SER proliferasyonu ile lobulus merkezine yakın hepatocytlerde vakuol miktarında belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir. Deneyin 104.haftasında ise bu gruba ait hem erkek hem de dişi sıçanların hepotocytlerinde vakuolleşmede artış olduğu bildirilmiştir.

Cis izomerinin trans izomerine göre daha toksik olduğu bilindiğinden, araştırmamızda cis izomer oranınının düşük olduğu (cis:trans=25:75) minimum %93 saflıktaki permethrin kullanıldı. Permethrin ATABAY Tarım Veteriner İlaçları Sanayi ve Ticaret A.Ş.'nden hazırlanmış olarak alındı. Daha önce bahsedilen, Ishmael ve Litchfield'in yaptıkları araştırmada (16) ise cis izomer oranınının daha yüksek olduğu (cis:trans=40:60) permethrin kullanılmıştır. O çalışmada kullanılan permethrin karışımı daha fazla cis izomer içerdiği için bizim kullandığımızdan daha toksiktir. Ishmael ve Litchfield'in çalışmasında sıçanlara verilen en yüksek doz olan 2500 ppm'lik permethrin miktarının bizim araştırmamızda kullandığımız 40 mg permethrin dozuna denk geldiği hesaplandı. Ayrıca bizim araştırmamızda, 2500 ppm'lik dozun iki katı (80 mg) ve 2500 ppm'lik dozun yarısı

(20 mg) kadar olan permethrin dozları da denendi. 80 mg permethrin dozunda 2500 ppm dozundan daha fazla, 20 mg permethrin dozunda ise daha az toksik etki görmeyi amaçladık. Ancak bahsedilen araştırmada ve taradığımız diğer literatürlerde testis dokusuyla ilgili herhangi bir histolojik bulgu yer almadığı için bulgularımızı karşılaştırma olanağımız olmadı. Değınilen çalışmada permethrin 2 yıl gibi uzun bir süre sıçanlara uygulanmıştır. Bu kadar uzun sürede deneyimizde kullandığımız Wistar türü sıçanların ileri derecede yaşlanması ve yaşlılığa bağlı değişikliklerin ortaya çıkması kaçınılmazdır. Çalışmamızda permethrin, sıçanların ileri derecede yaşlanmasına kadar varan uzun bir sürede verilmediği için, yaşlılığa bağlı bozuklukların izlenmesi söz konusu değildir. Bahsedilen araştırmada sıçanlara özel olarak hazırlanmış permethrin içeren yemler verilmiştir. Bu durumda sıçanların yem yeme miktarlarına bağlı olarak farklı miktarlarda permethrin almaları söz konusudur. Bizim uygulamamızda ise permethrin sıçanlara belirli miktarlarda ve gavaıyla verilmiştir. Permethrin'in bu tarzdaki uygulama ile deney hayvanlarına verilmesi daha emniyetli ve daha kontrollüdür. Permethrin, böcek ilaçlamada veya uyuz tedavisinde belli zaman aralıklarıyla kullanılmakta ve ağız yoluyla, solunum yoluyla veya deriden absorpsiyonla insan vücuduna girmektedir. Doğal yaşamda vücuda giren permethrin miktarları az olduğu ve 72 saatte metabolize olup vücuttan atıldığı (42) için bunun toksik etkisi de az olmaktadır. Çalışmamızın amacı, permethrin'in insana bulaşmasının insanda yapacağı toksik etkileri araştırmaktır. Bu da doğal olarak tarım ve orman işçileri ile ilaçlama yapılan yerlerde bulunan insanlar açısından göz önüne alındığında, bizim uygulamamız etkileme süresi kısa tutulduğu için pratiğe daha yakındır.

Araştırmamızda uygulanan permethrin dozu ile sıçanların testislerinde oluşan morfolojik bozuklukların derecesi arasında bir uyum vardır. Bu morfolojik bozukluklar, tüm permethrin verilen grupta peritubuler dokuda, myoid hücrelerde, bazal laminada, seminifer tubuluslarda hücre membranları arasındaki

ayrılmalar şeklinde, özellikle de spermatogoniumlar ile Sertoli hücreleri arasındaki boşluk oluşumu ve bu boşlukların büyümesiyle, tespit edildi. Germinal hücrelerde özellikle de spermatogoniumlardaki atrofi permethrin dozu arttıkça daha belirgin hale gelmiştir. Ayrıca Sertoli hücrelerinde lipid inklüzyonları ve lipofuscin granüllerinde artış ile tubulus lümenine gelişme sürecini tamamlamamış germinal hücrelerin dökülmesi de ışık ve elektronmikroskop resimlerinde gösterildi. İnterstisyel dokuda Leydig hücrelerinde atrofi, bu hücrelerin sitoplazmalarında lipid inklüzyonlarında ve düz endoplazma retikulumu dilatasyonlarında artış ile mitokondri matriksi içinde yer yer koyu madde birikimi izlendi.

Deneyimizde gavajla verdiğimiz permethrin, ince barsaklardan emilip kana geçmekte ve dolaşım yoluyla testislere gelmektedir. İnterstisyel dokuya ulaşan permethrin veya permethrinin metabolizması sonucu oluşabilecek ürünlerin seminifer tubuluslara geçmesi, ancak perfüzyon yoluyla mümkündür. Bu maddeler spermatogoniumlar ve Sertoli hücrelerini doğrudan etkileyebilirler. Spermatogoniumlarda atrofi ile birlikte bu hücrelerin çevrelerinde oluşan boşluklara sitoplazmik ayakçıklar şeklinde uzantılar çıkardıkları tespit edildi. Bu bozukluklar 40 mg permethrin uygulananlara göre 80 mg permethrin uygulananlarda daha çok dikkat çekiciydi. Bu durum, permethrin toksisitesine karşı spermatogoniumların bir reaksiyonu olarak değerlendirildi. Sertoli hücreleri sitoplazmalarında lipid inklüzyonlarındaki artış, seminifer tubulus lümenine gelişme sürecini tamamlamamış germinal hücrelerin dökülmesi, tubulus lümenine yakın olarak, Sertoli hücreleri apikallerinde, lipid ve lipofuscin granüllerinde artış, Sertoli hücrelerinde permethrin'e karşı gelişen reaksiyon sonucu ortaya çıkan bulgulardır. Germinal hücre sayılarında, doz arttırıldıkça daha belirgin hale gelen azalma da, Sertoli hücreleriyle germinal hücreler arasındaki ilişkilerin etkilendiğini gösteren bulgulardır. Bu durumda Leydig hücrelerindeki testosteron biyosentezinin bozulmasının da katkısı değerlendirildi. Permethrin Sertoli-Sertoli sıkı bağ-

lantı kompleksini bozmadığı için, lümenaltı kompartmandaki germinal hücreleri doğrudan etkilememiştir. Böylece spermiogenez bozulmamış ve permethrin etkisi ortadan kalktığında (V.grupta) 40 mg/sıçan-gün permethrin uygulaması ile ortaya çıkan morfolojik bozukluklar ortadan kalkmıştır.

Permethrin uygulamasından sonra testislerde ortaya çıkan değişiklikler permethrin etkisine özgü değişiklikler değildir. Buna benzer bozukluklar, testisi dış ve iç etkilerle bozabilen fiziksel koşullar, kimyasal maddeler, ilaçlar ve hormonlar tarafından da oluşturulmaktadır. Testisleri etkileyen ilaçlar ve kimyasal maddeler Neumann tarafından liste halinde rapor edilmiştir (27). Bunlar alkilleyici ajanlar, seks hormonları (androjenler, antiandrojenler, östrojenler, progesteronlar ve anabolikler), kemoterapötikler, antibiyotikler, antifungal ilaçlar, antikanser ilaçları, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, antihipertansifler, nöroleptikler, dopamin antagonistleri, indoller, tranqüilizerler, trisiklik antidepressifler, ağır metaller (Co, Cd), MAO-inhibitörleri, antimetabolitler, barbitüratlar, immünoşüpressifler (glukokortikoidler), aldosteron antagonistleri, antikonvülzivler, alkol ve nikotin olarak belirtilmiştir.

Seminifer tubulus çapları ile ilgili istatistiksel veriler **tablo 2**'de gösterilmiştir. Bu veriler göz önünde tutulduğunda, kontrol grubu sıçanların seminifer tubulus çaplarına ($\bar{X}=0.26303$ mm) göre, 20 mg permethrin verilen sıçanların tubulus çaplarında ($\bar{X}=0.26184$ mm) anlamlı değişiklik görülmedi; 40 mg permethrin verilen sıçanların tubulus çaplarında tespit edilen anlamlı küçülme ($\bar{X}=0.25586$ mm), 80 mg permethrin verilenlerin tubulus çaplarında daha belirgin idi ($\bar{X}=0.25441$). Bir ay boyunca günde 40 mg permethrin verilip daha sonraki bir ay permethrin'in muhtemel etkilerinin geri dönüşü için permethrin verilmeden beslenen sıçanların seminifer tubulus çaplarının ($\bar{X}=0.26252$ mm) kontrollerine ($\bar{X}=0.26576$ mm) yaklaştığı ve kontrollerle olan farkın anlamlı olmadığı tespit edildi. Bu istatistiksel sonuçlara göre seminifer tubulus çaplarında

doz arttıkça ilerleyen küçülme vardır. Permethrin seminifer tubuluslarda germinal hücrelerin sayısal yoğunluğunun azalmasına ve germinal hücrelerde atrofiye neden olmuştur. Bu bulgularla seminifer tubulusların çaplarında görülen küçülme paralellik göstermektedir.

Bulgularımızda ortaya koyduğumuz sonuçlara göre, yüksek doz permethrin uygulanması, seminifer tubulus ve böylece testis atrofisine neden olmuştur. Bu testis atrofisininin 40 mg permethrin verilenlerde geri dönüşlü olduğu gösterilmiştir.

Bir kaynakta cis permethrin'in sıçanlar için i.v LD50 değeri >270 mg/kg (10) olarak belirtilirken, başka bir kaynakta permethrin'in her iki izomeri için genelleştirilmiş i.v. LD50 değeri >540 mg/kg (20), diğer bir kaynakta ise akut oral LD50 değeri 3100 mg/kg (42) olarak bildirilmiştir. Swiss farelerinde permethrin'in 72 saatlik LD50 değeri i.p olarak 429 mg/kg şeklinde bulunmuştur (47).

Kullanılan deney hayvanlarının alt grupları ile ilgili doza bağlı davranışlardaki etkilenmeler arasında önemli farklılıklar çıkabilmektedir.

Bizim deneyimizde LD50 grubu olarak belirlenen VI.gruba ait sıçanlara oral yolla sıçanbaşına günde 640 mg permethrin verildi. Bu sıçanlardan biri uygulamanın ikinci gününde, üçü altıncı gününde ve diğer bir tanesi de uygulamanın onbirinci gününde öldü. Verilen permethrin 72 saat içinde vücuttan atıldığı (42) için her gün verilen permethrin'in bir miktarı vücutta kalacak ve permethrin'in vücutta yığılması gerçekleşecektir. Bu durumda onbirinci güne gelinceye kadar vücuttaki miktarı gittikçe artan permethrin daha toksik etki göstererek VI.grup sıçanların hepsinin ölmesine neden olmuştur.

Yüksek doz permethrin uygulamasından sonra Leydig hücrelerinde steroid sentezi ile ilgili organellerde tespit ettiğimiz ultrastrüktürel değişiklikler göz önüne alındığında, bu hayvanlarda testosteron sentezinde bir bozukluktan söz edilebilir. Testosteron sentezindeki bir bozukluk, spermatogenezin lümen altı kompartmandaki germinal hücrelerini etkiler. Dolaşım veya testis içinde testosteron miktarlarında oluşan değişiklikler lümen altı kompartmanda olgunlaşma sürecindeki hücreleri (spermatocytler ve spermatidler) etkileyerek, bu hücrelerin Sertoli hücreleri ile ilişkilerinde yapısal bozukluklar ortaya çıkarır; bu hücreler tubulustan ayrılarak lümene dökülürler ve tubulus epitelinde azalır veya hiç görülmezler. Araştırmamızda yüksek doz (80 mg/sıçan-gün) permethrin uygulanan sıçanların seminifer tubuluslarında germinal hücre sayılarında total bir azalma görüldüğü halde spermatogenez serisine ait tüm hücreler izlendi. Bu nedenle permethrin'in spermatogoniumları ve Sertoli hücrelerini direkt yolla etkilediğini, diğer spermatogenetik hücreleri ise indirekt olarak (muhtemelen testosteron miktarını azaltması sebebiyle) etkilediğini düşünmekteyiz. Permethrin verilen gruplardan III. ve IV. gruplarda Leydig hücrelerinin testosteron sentezinde rol alan organelleri olan SER (düz endoplazma retikulumu) ultrastrüktürü ve lipid inklüzyonlarında tespit edilen değişiklikler testosteron biyosentezindeki bozukluklara neden olabilecek düzeydedir. Ancak elimizde hormonal veriler bulunmadığı için testosteron düzeyinin düşüp düşmediğini söyleyemiyoruz.

Elde ettiğimiz veriler permethrin'in özellikle spermatogonium, Sertoli hücresi ve bir miktar da Leydig hücrelerini etkileyerek testiste olumsuz etkiler yaptığı, ancak spermatogenezini tamamen bozmadığı ve bu etkilerinin geri dönüşlü olduğunu göstermektedir. Birçok literatürde permethrin'in olumlu yönlerinin çok olduğu, olumsuz yönlerinin ise hemen hemen hiç bulunmadığı bildirilmiştir (1,16,21,33,42). Bazı zararlı böceklerden korunmak için kullanılması sırasında, çeşitli yollarla insan vücuduna giren permethrin miktarları, bizim gavajla

verdiğimiz miktarlardan çok daha düşüktür. Ancak ilacın tatbikatı sırasında, uygulayıcı işçilerin yüksek dozlarda permethrin'le kontamine olması ihtimalini gözden ırak tutmamak gerektiği hususuna dikkat çekmek istiyoruz. Son söz olarak, kitlesel ilaçlamada veya tedavi sırasında alınan permethrin dozlarının testisleri etkilemeyeceğini düşünmekle beraber, kullanım sırasında alınan fazla dozun toksik etkiler yapabileceğini söyleyebiliriz.



SONUÇ

Çok güçlü bir insektisit olarak belirtilen permethrin'in erişkin sıçan testisi morfolojisi üzerine etkilerini araştıran bu çalışmada, düşük doz permethrin (20 mg/sıçan-gün) uygulaması ile testis morfolojisinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak 40 mg/sıçan-gün dozundan başlanarak, 80 mg/sıçan-gün dozuna doğru etki araştırıldığında, giderek daha belirgin hale gelen şu sonuçlar ortaya çıkmıştır.

1. Peritubuler dokuda iç ve dış hücreli tabakalarda kalınlaşma, bazal laminada ondülasyon, peritubuler myoid hücrelerde hafif atrofi;
2. Seminifer tubuluslarda, bazal kompartmanda bulunan hücrelerin membranları arasında açılmalar, germinal hücrelerde atrofi, germinal hücrelerin sayılarında azalma, tubulus lümenine gelişme sürecini tamamlamamış germinal hücrelerin dökülmesi, tubulus çaplarında küçülme;
3. Sertoli hücreleri nukleuslarında aşırı invajinasyonlar, sitoplazmalarında elektron yoğun lipid inklüzyonlarında ve sitoplazmik partiküllerde çoğalma;
4. Spermatogoniumlarda total hücre atrofisi ile birlikte sitoplazma/nukleus hacim oranında azalma, spermatogoniumlarla Sertoli hücreleri membranları arasında vakuol tarzında açılmalar, oluşan bu boşluklara spermatogoniumlar tarafından sitoplazmik ayakçıklar çıkarılması;

5. Spermatoctler, yuvarlak ve uzamış spermatidlerde hafif atrofi; spermatidlerde normalden biraz fazla anormal baş gelişimi;
6. Leydig hücrelerinde hafif atrofi, lipid inklüzyonları büyüklük ve sayılarında artış ile düz endoplazma retikulumu dilatasyonları.

Bir ay süre ile günde 40 mg permethrin verildikten sonraki bir ay permethrin uygulaması yapılmayan sıçanlarda 40 mg permethrin etkisiyle oluşan bozukluklara rastlanmamıştır.

Bu sonuçlara göre, tarımda ve çevre ilaçlamasında çok yaygın olarak kullanılan permethrin pratikte uygulama dozlarında erişkin sıçan testisleri için toksik etkiye sahip olmadığı halde deney şartlarında yüksek dozlarda sıçanlara tatbik edildiğinde toksik etkiler ortaya çıkarabilmektedir.

ÖZET

Bu araştırmada 180-200 gr ağırlığında Wistar türü albino sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubu dışındaki diğer sıçanlara gavajla bir ay boyunca 20, 40 ve 80 mg/sıçan-gün dozlarında permethrin verildi. Gruplardan birine deneyin birinci ayında 40 mg/sıçan-gün permethrin verildikten sonra deneyin ikinci ayında, permethrin etkisinin geri dönüşünün izlenmesi amacıyla permethrin verilmedi.

20 mg/sıçan-gün permethrin uygulanan sıçanların testislerinde mikroskopik düzeyde önemli bir değişiklik görülmedi.

40 ve 80 mg permethrin verilenlerde, 40 mg verilenlere göre 80 mg verilenlerde daha belirgin, şu değişiklikler görüldü:

Peritubuler dokuda hafif kalınlaşma, myoid hücrelerde hafif atrofi ve bazal laminada ondülasyon; seminifer tubulus epitelinde hücre membranları arasında açılmalar, germinal hücrelerde atrofi, total germinal hücre sayılarında azalma, spermatogoniumlarda belirgin atrofi, spermatogoniumlarla Sertoli hücreleri arasında belirgin boşluk oluşumu ve bu boşluklara doğru spermatogoniumlar tarafından sitoplazmik uzantı çıkarılması, Sertoli hücreleri nükleuslarında aşırı invajinasyonlar, sitoplazmalarında lipid ve lipofuscin granüllerinde artış, tubulus lümenine olgunlaşma sürecini tamamlamamış germinal hücrelerin dökülmesi, seminifer tubulus çaplarında küçülme; Leydig hücrelerinde lipid inklüzyonları büyüklük ve sayılarında artış ile düz endoplazma retikulumu dilatasyonları.

Bir ay boyunca sıçan başına günde 40 mg permethrin verildikten sonraki bir ay permethrin uygulaması yapılmayan sıçanlarda 40 mg permethrin etkisiyle ortaya çıkan bozukluklar görülmedi.

SUMMARY

Wistar albino rats (180-200 g b.w) were used in this research. Permethrin was given in doses of 20 mg, 40 mg and 80 mg/rat-day by gavage for a month to all rats except the control group.

In order to observe whether the effects of permethrin would be reversible or not, permethrin was given to one of the groups of rats in a dose of 40 mg/day permethrin for a month, and then this group was kept under observation for another month without permethrin.

Important changes were not observed in the testes of rats that were given 20 mg permethrin/day per a rat at the level of microscopy.

Following changes were found in the groups of rats given 40 mg/day and 80 mg/day permethrin, the changes being more pronounced as the dose increased from 40 mg/day to 80 mg/day: slightly thickening of peritubular tissue and atrophy of myoid cells, ondulation of basal lamina; atrophy of germinal cells in the epithelium of seminiferous tubule, widening apart of cell membranes of these cells, decreasing in the total number of germinal cells, atrophy of spermatogonia, widening between spermatogonia and Sertoli's cells and presence of cytoplasmic projections of the spermatogonia in these spaces, excessive invaginations in nuclei of Sertoli's cell, increase in the lipid and lipofuscin granules in the cytoplasm of these cells, extrusion of the

germinal cells which didn't complete their maturation process and presence of these cells in the lumen of the tubule; decrease in the diameters of the seminiferous tubules; in Leydig's cells, increase in the number and in the size of the lipid inclusions, dilatation of smooth endoplasmic reticulum.

In the group of rats which were given 40 mg/day permethrin for a month and kept for another month without permethrin, no degenerative changes were observed when compared with the findings of the group given 40 mg/day permethrin for a month and sacrificed.

KAYNAKLAR

1. Anadon A, Diez MJ, Sierra M, Sanchez JA, Teran MT: Microsomal enzyme induction by permethrin in rats. **Vet Hum Toxicol** 30(4): 309-312 (1988).
2. Barcay SJ, Schneider BM, Bennett GW: Influence of insecticide treatment on German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) movement and dispersal within apartments. **J Econ Entomol** 83 (1): 142-147 (1990).
3. Brandenburg K, Deinard AS, Di Napoli J, Englender SJ, Orthofer J, Wagner D: 1% permethrin cream rinse vs 1% lindane shampoo in treating pediculosis capitis. **AJDC** 140: 894-896 (1986).
4. Carson DS, Tribble PW, Weart CW: Pyrethrins combined with piperonyl butoxide (RID) vs 1% permethrin (NIX) in the treatment of head lice. **AJDC** 142: 768-769 (1988).
5. Coats JR: Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. **Environ Health Perspect** 87: 255-262 (1990).
6. el-Toukhy MA, Ebied SA, Hassan AA, el-Sewedy SM : In vivo studies on the effect of some insecticides on the hepatic activities of L-tryptophan 2,3-dioxygenase and pyridoxal phosphokinase of male mice. **J Environ Sci Health(B)** 24 (3): 265-276 (1989).
7. Eldefrawi ME, Sherby SM, Abalis IM, Eldefrawi AT: Interactions of pyrethroid and cyclodiene insecticides with nicotinic acetylcholine and GABA receptors. **Neurotoxicology** 6 (2): 47-62 (1985).

8. Flannigan SA, Tucker SB, Key MM, Ross CE, Fairchild II EJ, Grimes BA, Harrist RB: Synthetic pyrethroid insecticides: a dermatological evaluation. **Br J Industr Med** 42: 363-372 (1985).
9. Gammon DW, Sander G: Two mechanisms of pyrethroid action: Electrophysiological and pharmacological evidence. **Neurotoxicology** 6 (2): 63-86 (1985).
10. Gray AJ: Pyrethroid structure-toxicity relationships in mammals. **Neurotoxicology** 6 (2): 127-138 (1985).
11. Gupta RK, Rutledge LC, Reifenrath WG, Gutierrez GA, Korte DW: Resistance of permethrin to weathering in fabrics treated for protection against mosquitoes (Diptera: Culicidae). **J Med Entomol** 27 (4): 494-500 (1990).
12. Gupta RK, Mehr ZA, Korte DW, Rutledge LC: Mutagenic potential of permethrin in the *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) sex-linked recessive lethal test. **J Econ Entomol** 83 (3): 721-724 (1990).
13. Gupta RK, Rutledge LC, Reifenrath WG, Gutierrez GA, Korte DW: Effects of weathering on fabrics treated with permethrin for protection against mosquitoes. **J Am Mosq Control Assoc** 5 (2): 176-179 (1989).
14. Haustein UF, Hlawa B: Treatment of scabies with permethrin versus lindane and benzyl benzoate. **Acta Derm Venereol (Stockh)** 69 (4): 348-351 (1989).
15. Hoellinger H, Lecorsier A, Sonnier M, Leger C, Thang D-C, Nam N-H: Cytotoxicity, cytogenotoxicity and allergenicity tests on certain pyrethroids. **Drug Chem Toxicol** 10 (3-4): 291-310 (1987).
16. Ishmael J, Litchfield MH: Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of permethrin in rats and mice. **Fundam Appl Toxicol** 11: 308-322 (1988).

17. Johnson AD, Gomes WR, Vandemark NL: Ed.by: The Testis, Volume III: Influencing Factors. Academic Press, New York and London (1970).
18. Knox II JM, Tucker SB, Flannigan SA: Paresthesia from cutaneous exposure to a synthetic pyrethroid insecticide. **Arch Dermatol** 120: 744-746 (1984).
19. Lane RS: Treatment of clothing with a permethrin spray for personal protection against the western black-legged tick, *Ixodes pacificus* (Acari:Ixodidae). **Exp Appl Acarol** 6 (4): 343-352 (1989).
20. Lawrence LJ, Gee KW, Yamamura HI: Interactions of pyrethroid insecticides with chloride ionophore-associated binding sites. **Neurotoxicology** 6 (2): 87-98 (1985).
21. Mazas EA, Porto MC, Perez MCS, Farquihar JA, Hutchinson DBA: The efficacy of permethrin lotion in pediculosis capitis **Inter J Dermatol** 24 (9): 603-605 (1985).
22. Mc Laughlin RE, Focks DA, Dame DA: Residual activity of permethrin on cattle as determined by mosquito bioassays. **J Am Mosq Control Assoc** 5 (1): 60-63 (1989).
23. Michelangeli F, Robson MJ, East JM, Lee AG: The conformation of pyrethroids bound to lipid bilayers. **Biochim Biophys Acta** 1028: 49-57 (1990).
24. Mitchell JA, Wilson MC, Kallman MJ: Behavioral effects of pydrin and ambush in male mice. **Neurotoxicol Teratol** 10 (2): 113-119 (1988).
25. Mori K, Kaido M, Fujishiro K, Inoue N, Koide O, Hori H, Tanaka I: Dose dependent effects of inhaled ethylene oxide on spermatogenesis in rats. **Br J Indust Med** 48: 270-274 (1991).

26. Narahashi T: Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. **Neurotoxicology** 6 (2): 3-22 (1985).
27. Neumann F: Effects of drugs and chemicals on spermatogenesis. **Arch Toxicol** 7 (Suppl): 109-117 (1984).
28. Nishimura K, Omatsu M, Fujita T: Physicochemical properties of pyrethroids and specific action-potential changes. **Neurotoxicology** 6 (2): 117-126 (1985).
29. Sahib IK, Prasada Rao KS, Desai D: Pyrethroid inhibition of basal and calmodulin stimulated Ca^{2+} -ATPase and adenylate cyclase in rat brain. **J Appl Toxicol** 7 (2): 75-80 (1987).
30. Schreck CE, McGovern TP: Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. **J Am Mosq Control Assoc** 5 (2): 247-250 (1989).
31. Schreck CE, Kline DL: Personal protection afforded by controlled-release topical repellents and permethrin-treated clothing against natural populations of *Aedes taeniorhynchus*. **J Am Mosq Control Assoc** 5 (1): 77-80 (1989).
32. Schreck CE, Haile DG, Kline DL: The effectiveness of permethrin and deet, alone or in combination, for protection against *Aedes taeniorhynchus*. **Am J Trop Med Hyg** 33 (4): 725-730 (1984).
33. Schultz MW, Gomez M, Hansen RC, Mills J, Menter A, Rodgers H, Judson FN, Mertz G, Handsfield HH: Comparative study of 5% permethrin cream and 1% lindane lotion for the treatment of scabies. **Arch Dermatol** 126: 167-170 (1990).
34. Shah PV, Fisher HL, Sumler MR, Monroe RJ, Chernoff N, Hall LL: Comparison of the penetration of 14 pesticides through the skin of young and adult rats. **J Toxicol Environ Health** 21 (3): 353-366 (1987).

35. Shono T, Scott JG: Autosomal sex-associated pyrethroid resistance in a strain of house fly (Diptera: Muscidae) with a male-determining factor on chromosome three. **J Econ Entomol** 83 (3): 686-689 (1990).
36. Sholdt LL, Rogers EJ, Gerberg EJ, Schreck CE: Effectiveness of permethrin-treated military uniform fabric against human body lice. **Milit Med** 154 (2): 90-93 (1989).
37. Sibley PK, Fortin C: Visual detection of microencapsulated insecticides with selective staining and scanning electron microscopy. **J Econ Entomol** 82 (5): 1323-1327 (1989).
38. Sidon EW, Moody RP, Franklin CA: Percutaneous absorption of cis-and trans-permethrin in rhesus monkeys and rats: Anatomic site and interspecies variation. **J Toxicol Environ Health** 23: 207-216 (1988).
39. Snow RW, Shenton FC, Lindsay SW, Greenwood BM, Bennett S, Wheeler J, Del Giudice G, Verdini AS, Pessi A: Sporozoite antibodies and malaria in children in a rural area of the Gambia. **Ann Trop Med Parasitol** 83 (6): 559-568 (1989).
40. Soderlund DM, Bloomquist JR: Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. **Ann Rev Entomol** 34: 77-96 (1989).
41. Sparks TC, Byford RL, Craig ME, Crosby BL, McKenzie C: Permethrin metabolism in pyrethroid-resistant adults of the horn fly (Muscidae:Diptera). **J Econ Entomol** 83 (3): 662-665 (1990).
42. Taplin D, Meinking TL: Pyrethrins and pyrethroids in dermatology. **Arch Dermatol** 126: 213-221 (1990).
43. Taplin D, Meinking TL, Chen JA, Sanchez R: Comparison of crotamiton 10% cream (Eurax) and permethrin 5% cream (Elimite) for the treatment of scabies in children. **Pediatr Dermatol** 7 (1): 67-73 (1990).

44. Taplin D, Meinking TL: Scabies, lice, and fungal infections. **Prim Care** 16 (3): 551-576 (1989).
45. Van der Rhee HJ, Farquhar JA, Vermeulen NP: Efficacy and transdermal absorption of permethrin in scabies patients **Acta Derm Venereol (Stockh)** 69 (2): 170-173 (1989).
46. Vijverberg HPM, de Weille JR: The interaction of pyrethroids with voltage-dependent Na channels. **Neurotoxicology** 6 (2): 23-34 (1985).
47. Williamson EG, Long SF, Kallman MJ, Wilson MC: A comparative analysis of the acute toxicity of technical-grade pyrethroid insecticides and their commercial formulations. **Ecotoxicol Environ Safety** 18 (1): 27-34 (1989).
48. Zitko V, Mc Leese DW, Metcalfe CD, Carson WG: Toxicity of permethrin, decamethrin, and related pyrethroids to Salmon and Lobster. **Bull Environm Contam Toxicol** 21: 338-343 (1979).

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR

RESİMLER

VE

AÇIKLAMALAR